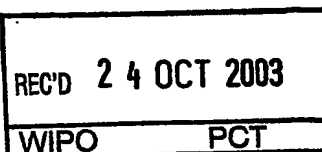




PCT/FR 0 3 / 0 2 2 8 7



BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION**COPIE OFFICIELLE**

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 25 III 2003

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



BREVET D'INVENTION

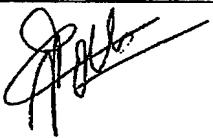
26bis, rue de Saint-Pétersbourg
75800 Paris Cédex 08
Téléphone: 01 53.04.53.04 Télécopie: 01.42.94.86.54

Code de la propriété intellectuelle-livre VI

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

DATE DE REMISE DES PIÈCES: 19 JUIL. 2002 N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL: DÉPARTEMENT DE DÉPÔT: INPI 0209232 DATE DE DÉPÔT: 19 JUIL. 2002	Mireille DIDIER Cabinet GERMAIN & MAUREAU 12 rue Boileau 69006 LYON France
Vos références pour ce dossier: DoG/VP/BR038034	

1 NATURE DE LA DEMANDE			
Demande de brevet			
2 TITRE DE L'INVENTION			
		BIOPUCE FLEXIBLE	
3 DECLARATION DE PRIORITE OU REQUETE DU BENEFICE DE LA DATE DE DEPOT D'UNE DEMANDE ANTERIEURE FRANCAISE		Pays ou organisation	Date N°
4-1 DEMANDEUR			
Nom		APIBIO	
Rue		Chemin de l'Orme	
Code postal et ville		69280 MARCY L'ETOILE	
Pays		France	
Nationalité		France	
Forme juridique		SAS	
N° SIREN		433 975 307	
Code APE-NAF		000	
5A MANDATAIRE			
Nom		DIDIER	
Prénom		Mireille	
Qualité		CPI: 971202	
Cabinet ou Société		Cabinet GERMAIN & MAUREAU	
Rue		12 rue Boileau	
Code postal et ville		69006 LYON	
N° de téléphone		04.72.69.84.30	
N° de télécopie		04.72.69.84.31	
Courrier électronique		mireille.didier@germainmaureau.com	

6 DOCUMENTS ET FICHIERS JOINTS		Fichier électronique	Pages	Détails
Description		desc.pdf	9	
Revendications	V		2	10
Dessins			2	6 fig., 3 ex.
Abrégé	V		1	
Listage des sequences, PDF				
Rapport de recherche				
Chèque			1 doc.	3331536
7 MODE DE PAIEMENT				
Mode de paiement		Remise d'un chèque		
Numéro de chèque		3331536		
8 RAPPORT DE RECHERCHE				
Etablissement immédiat				
9 REDEVANCES JOINTES				
	Devise	Taux	Quantité	Montant à payer
062 Dépôt	EURO	35.00	1.00	35.00
063 Rapport de recherche (R.R.)	EURO	320.00	1.00	320.00
Total à acquitter	EURO			355.00
10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE				
Signé par 		Mireille DIDIER CPI 971202		

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

La présente invention concerne un capteur, et plus particulièrement un biocapteur, pour servir d'outil en analyse biologique moléculaire.

Par « biocapteur », on entend un ensemble fonctionnel, à usage unique ou non, par exemple mis en œuvre aux fins d'une détermination biologique moléculaire, agencé pour et/ou destiné à coopérer avec au moins un appareil ou instrument distinct et complémentaire, recevant un échantillon d'intérêt, liquide ou fluide, immobile ou en mouvement, ledit échantillon liquide comprenant au moins une espèce cible, en suspension ou en solution, par exemple une biomolécule, éventuellement marquée ; et le biocapteur délivre au moins un signal de sortie en relation avec la présence, et/ou la nature, et/ou la structure et/ou la quantité de ladite espèce cible. S'agissant d'un biocapteur de petite taille, par exemple de l'ordre du centimètre, celui-ci peut être appelé « biopuce », selon la terminologie retenue dans le domaine technique concerné.

Le biocapteur comprend au moins :

- un support comportant une face utile comprenant une surface opératoire au contact de l'échantillon ; le matériau ou la matière du support est inerte, et non substantiellement conducteur de l'électricité, au sens où ledit matériau n'interagit pratiquement pas avec l'échantillon, et en particulier l'espèce cible, par liaison forte du type liaison chimique covalente, ou par liaison faible, par exemple liaison hydrogène, d'autres interactions de type physique, telles que tension superficielle, n'étant pas par ailleurs exclues ; le matériau constitutif d'un tel support est par exemple une matière plastique, par exemple une résine thermoplastique, par exemple un polypropylène,

- un arrangement opératoire de sites élémentaires distribués de manière prédéterminée sur la surface opératoire, chaque site élémentaire étant adressé, c'est-à-dire identifié par des coordonnées qui lui sont uniques ; ces sites élémentaires sont eux-mêmes éventuellement traités pour former des électrodes, en vue de la fixation ou de l'ancrage des ligands, dont il sera question ci-après ; ce traitement peut par exemple consister en un revêtement avec une couche d'un polymère conducteur électronique, par exemple polypyrrole modifié, selon les techniques exposées dans les documents FR 2 703 359, WO9422889, et EP0 691 978, FR 2 787 582, EP 1 141 391, et WO 0036145, dont le contenu est incorporé à la présente demande de brevet en tant que de besoin ; au terme de ce traitement, on obtient sur le support une multiplicité d'électrodes électriquement ou électroniquement conductrices, disposées sur la face utile du support selon l'arrangement opératoire retenu, découvertes, au sens où ces électrodes peuvent être mises au contact ensemble avec un même milieu liquide extérieur, en l'occurrence l'échantillon d'intérêt.

La présente invention concerne un capteur, et plus particulièrement un biocapteur, pour servir d'outil en analyse biologique moléculaire.

Par « biocapteur », on entend un ensemble fonctionnel, à usage unique ou non, par exemple mis en œuvre aux fins d'une détermination biologique moléculaire, agencé pour et/ou destiné à coopérer avec au moins un appareil ou instrument distinct et complémentaire, recevant un échantillon d'intérêt, liquide ou fluide, immobile ou en mouvement, ledit échantillon liquide comprenant au moins une espèce cible, en suspension ou en solution, par exemple une biomolécule, éventuellement marquée ; et le biocapteur délivre au moins un signal de sortie en relation avec la présence, et/ou la nature, et/ou la structure et/ou la quantité de ladite espèce cible. S'agissant d'un biocapteur de petite taille, par exemple de l'ordre du centimètre, celui-ci peut être appelé « biopuce », selon la terminologie retenue dans le domaine technique concerné.

Le biocapteur comprend au moins :

- un support comportant une face utile comprenant une surface opératoire au contact de l'échantillon ; le matériau ou la matière du support est inerte, et non substantiellement conducteur de l'électricité, au sens où ledit matériau n'interagit pratiquement pas avec l'échantillon, et en particulier l'espèce cible, par liaison forte du type liaison chimique covalente, ou par liaison faible, par exemple liaison hydrogène, d'autres interactions de type physique, telles que tension superficielle, n'étant pas par ailleurs exclues ; le matériau constitutif d'un tel support est par exemple une matière plastique, par exemple une résine thermoplastique, par exemple un polypropylène,
- un arrangement opératoire de sites élémentaires distribués de manière prédéterminée sur la surface opératoire, chaque site élémentaire étant adressé, c'est-à-dire identifié par des coordonnées qui lui sont uniques ; ces sites élémentaires sont eux-mêmes éventuellement traités pour former des électrodes, en vue de la fixation ou de l'ancrage des ligands, dont il sera question ci-après ; ce traitement peut par exemple consister en un revêtement avec une couche d'un polymère conducteur électronique, par exemple polypyrole modifié, selon les techniques exposées dans les documents FR 2 703 359, WO9422889, et EP0 691 978, FR 2 787 582, EP 1 141 391, et WO 0036145, au terme de ce traitement, on obtient sur le support une multiplicité d'électrodes électriquement ou électroniquement conductrices, disposées sur la face utile du support selon l'arrangement opératoire retenu, découvertes, au sens où ces électrodes peuvent être mises au contact ensemble avec un même milieu liquide extérieur, en l'occurrence l'échantillon d'intérêt.

- un ensemble de connexions, ou circuit, de type électrique ou électronique, avec respectivement les différentes électrodes élémentaires, ledit ensemble de connexions étant agencé pour relier individuellement chaque électrode élémentaire, de manière indépendante par rapport aux autres électrodes élémentaires, par exemple par adressage (conférer le document FR- A- 2741475) ; une multiplicité de bornes électriques correspondant respectivement aux électrodes précitées, disposées sur une face utile du support, découvertes, au sens où lesdites bornes peuvent être connectées à l'extérieur, électriquement ou électroniquement, de manière indépendante, les unes par rapport aux autres ; une multiplicité de pistes électriquement ou électroniquement conductrices, cheminant chacune sur l'une et/ou l'autre face du support, reliant la multiplicité d'électrodes respectivement à la multiplicité de bornes ; ledit ensemble de connexions est donc un circuit électrique ou électronique multiplexé de bornes électriques et d'électrodes et contre-électrodes qui leur sont connectées respectivement ;
- une couche d'un matériau électriquement ou électroniquement isolant, par exemple un vernis, revêtissant l'une et/ou l'autre face du support, d'une part en recouvrant au moins en partie lesdites pistes, et d'autre part en découvrant, et les électrodes et les bornes.

Les dimensions de ces biocapteurs, par exemple de l'ordre de 1 mm^2 à quelques cm^2 peuvent requérir pour leur réalisation ou production, la mise en œuvre de techniques dites « micro » ou « nano-technologies », par exemple par lithographie ou micro-usinage.

Mais la Demanderesse n'entend pas être limitée à des dimensions particulières, notamment de l'ordre du μm ou du nm , lorsqu'elle utilise le terme « capteur », « biocapteur », ou « biopuce » dans la présente description et dans les revendications en annexe, considérant que la même structure ou le même agencement que celui défini ci-après peut être mis en œuvre avec des dimensions de l'ordre de quelques mm^2 , comme avec des dimensions beaucoup plus importantes.

Bien entendu, un biocapteur tel que considéré par la présente invention ne peut fonctionner de manière autonome, sauf à embarquer avec lui sa propre source d'énergie. Par conséquent, ce biocapteur est agencé pour coopérer, par exemple de façon amovible, d'une part avec des moyens extérieurs permettant de faire circuler ou séjourner, en contact de la surface opératoire et des ligands, l'échantillon liquide d'intérêt, mais aussi d'autres fluides ou liquides, tels que liquide de lavage, et d'autre part avec des moyens de détection et de traitement du ou des signaux de sortie, le tout étant en général contrôlé et commandé, par des moyens électroniques extérieurs,

analogiques ou informatiques, par exemple selon toute logique ou organigramme de traitement.

Par « biomolécule », on entend toute entité, en particulier biochimique, ou biologique, identique à ou dérivée de toute espèce moléculaire existant dans la nature.

- 5 Au rang des biomolécules considérées par la présente invention, on peut citer certains biopolymères, par exemple l'ADN, l'ARN, les oligo et polynucléotides, les protéines fonctionnelles ou structurales, les peptides, les oligo et polypeptides, les polysaccharides, etc.

- 10 Par « marquage » ou « marqué », on entend la caractéristique selon laquelle on fixe sur une entité, par exemple l'espèce cible, de manière covalente ou autre, un marqueur, c'est-à-dire un substituant ou reste permettant, avec ou sans l'aide d'un moyen extérieur, tel qu'illumination, avec ou sans étape postérieure, telle que mise en contact avec un substrat, de produire un signal, dit précédemment signal de sortie.

- 15 Les marqueurs préférés selon la présente invention sont :

- Les haptènes, par exemple la biotine fixant le conjugué streptavidine-phycoérythrine.

- Les fluorophores : par exemple fluorescéine, cyanine, phycoérythrine.

- Les luminophores : luminol, isoluminol, ABEI (N-4-amino-butyl-N-éthyl-isoluminol).

- Les enzymes : par exemple d'oxydation d'un chromogène ; conférer peroxydase de raifort, phosphatase alcaline.

- 25 Par « détermination », on entend l'identification, qualitative et/ou quantitative, la détection, la description (par exemple séquençage), la séparation, ou l'enrichissement de l'espèce cible, pouvant être appelée « analyte » dans le cas d'une identification qualitative et/ou quantitative. Ressort selon la présente invention de l'expression « détermination », tout séquençage d'une biomolécule du type ADN ou polypeptide.

- 30 Le ou les signaux de sortie aux fins de la détermination peuvent avoir toute nature appropriée, en fonction des marqueurs mis en œuvre, et du type de détection requis. Il peut s'agir de signaux lumineux, visibles ou invisibles, électriques, électro-optiques, électrochimiques, etc.... Par ailleurs, ces signaux peuvent le cas échéant être détectés séparément, compte tenu, d'une part de l'adressage des électrodes du biocapteur, et d'autre part de l'ensemble de connexion des bornes électriques
- 35 respectivement avec les différentes électrodes présentes sur le biocapteur.

Par « ligand », on entend toute entité, cellulaire, biologique, ou biomolécule ayant une affinité, spécifique ou non, pour une espèce cible. Affinité exprimant qu'il se forme, dans les conditions (notamment température, pH, force ionique, etc.) de la mise en contact de l'espèce cible avec le ligand, un appariement ou
 5 complexe stable entre ladite espèce cible et ledit ligand. A titre d'exemple de ligand, on citera tout oligonucléotide susceptible de se lier par liaisons faibles, on dira dans ce cas de s'hybrider, avec un brin d'ADN (espèce cible), comportant une séquence complémentaire avec celle du ligand.

Chaque ligand est attaché ou ancré en chaque site ou sur chaque électrode
 10 du biocapteur, éventuellement après fonctionnalisation des sites élémentaires de la surface opératoire du support, par tout moyen approprié, par exemple chimique, par liaison covalente, par exemple par l'intermédiaire d'un bras espaceur, ou par adsorption, absorption, etc.

S'agissant de sites élémentaires revêtus comme indiqué précédemment
 15 avec un polymère de type polypyrole modifié ou polythiophène, et électriquement adressés, la fixation des ligands peut être effectuée selon les techniques électrochimiques décrites par les documents FR 2789401, EP 1 152 821 et WO 0047317, FR 2 742 451, EP 0 868 464 et WO 9722648.

Par espèce cible, on entend toute espèce cellulaire, biologique, ou
 20 biochimique, susceptible de se lier par liaison faible à un ou plusieurs ligands.

S'agissant d'un biocapteur du type biopuce, en l'état actuel du secteur technique considéré, on peut distinguer deux voies d'obtention de ligands respectivement différents, fixés chacun en nombre multiple respectivement sur les différentes électrodes :

25 - une voie in situ, qui consiste, par une série d'opérations successives, incrémentées, à synthétiser sur la surface opératoire elle-même, les différents ligands, ensemble, motif élémentaire par motif élémentaire, par exemple mer par mer, à partir d'un premier motif fixé en différents sites élémentaires, et ce dans l'ordre des séquences respectivement retenues pour les différents ligands ; à cet égard, on se
 30 référera aux documents FR 2703359, EP 0 691 978, et WO 9422889 ; US 5 744 305, US 6 015 880, WO 9525116, et EP 0 750 629, dont le contenu est incorporé à la présente description en tant que de besoin,

- et une voie ex situ, qui consiste à synthétiser ou obtenir les ligands respectivement différents en dehors de la surface opératoire, et à fixer les différents
 35 ligands chacun en nombre multiple, dans leurs sites élémentaires respectivement différents par activation électrique différenciée, car adressée, desdits sites

Par « ligand », on entend toute entité, cellulaire, biologique, ou biomolécule ayant une affinité, spécifique ou non, pour une espèce cible. Affinité exprimant qu'il se forme, dans les conditions (notamment température, pH, force ionique, etc.) de la mise en contact de l'espèce cible avec le ligand, un appariement ou
 5 complexe stable entre ladite espèce cible et ledit ligand. A titre d'exemple de ligand, on citera tout oligonucléotide susceptible de se lier par liaisons faibles, on dira dans ce cas de s'hybrider, avec un brin d'ADN (espèce cible), comportant une séquence complémentaire avec celle du ligand.

Chaque ligand est attaché ou ancré en chaque site ou sur chaque électrode
 10 du biocapteur, éventuellement après fonctionnalisation des sites élémentaires de la surface opératoire du support, par tout moyen approprié, par exemple chimique, par liaison covalente, par exemple par l'intermédiaire d'un bras espaceur, ou par adsorption, absorption, etc.

S'agissant de sites élémentaires revêtus comme indiqué précédemment
 15 avec un polymère de type polypyrole modifié ou polythiophène, et électriquement adressés, la fixation des ligands peut être effectuée selon les techniques électrochimiques décrites par les documents FR 2789401, EP 1 152 821 et WO 0047317, FR2 742 451, EP 0 868 464 et WO 9722648.

Par espèce cible, on entend toute espèce cellulaire, biologique, ou
 20 biochimique, susceptible de se lier par liaison faible à un ou plusieurs ligands.

S'agissant d'un biocapteur du type biopuce, en l'état actuel du secteur technique considéré, on peut distinguer deux voies d'obtention de ligands respectivement différents, fixés chacun en nombre multiple respectivement sur les différentes électrodes :

25 - une voie in situ, qui consiste, par une série d'opérations successives, incrémentées, à synthétiser sur la surface opératoire elle-même, les différents ligands, ensemble, motif élémentaire par motif élémentaire, par exemple mer par mer, à partir d'un premier motif fixé en différents sites élémentaires, et ce dans l'ordre des séquences respectivement retenues pour les différents ligands ; à cet égard, on se
 30 référera aux documents FR 2703359, EP 0 691 978, et WO 9422889 ; US 5 744 305, US 6 015 880, WO 9525116, et EP 0 750 629,

- et une voie ex situ, qui consiste à synthétiser ou obtenir les ligands respectivement différents en dehors de la surface opératoire, et à fixer les différents ligands chacun en nombre multiple, dans leurs sites élémentaires respectivement
 35 différents par activation électrique différenciée, car adressée, desdits sites

élémentaires ; conférer les documents FR 2703359, EP 0 691 978, et WO9422889 ; WO 0151689, US 6 090 933, dont le contenu est incorporé à la présente description en tant que de besoin.

Aujourd'hui, les biocapteurs du type biopuces sont des outils, simples ou
5 complexes, bien adaptés à toutes sortes d'analyse de biologie moléculaire ; conférer "DNA chips : a new tool for genetic analysis and diagnostics". M. Cuzin. Transfusion clinique et Biologique 2001 ; 8:291-6 ; et "How to make a DNA chip", Michael C. Pirrung, Angew. Chem. Int. Ed 2002.41, 1276-1289.

De manière générale, un biocapteur tel que décrit précédemment est
10 disposé au fond d'un puits, par exemple d'une plaque de micro-titration, au sein duquel l'échantillon liquide comprenant l'espèce cible est introduit, séjourne, puis est évacué.

La présente invention a pour objet un capteur, en particulier un biocapteur, et par exemple une biopuce, particulièrement simples à fabriquer ou réaliser, et permettant les mises en œuvre les plus variées, par exemple dans les puits d'une micro-
15 plaque.

Selon la présente invention, d'une part la multiplicité d'électrodes est disposée dans une zone extrême à l'opposé d'une autre zone extrême dans laquelle les bornes électriques sont regroupées ensemble, et d'autre part le support comporte au moins une zone flexible, située entre les deux zones extrêmes.

20 Préférentiellement, la totalité du support est flexible et réalisée par exemple en matériau isolant souple sous faible épaisseur.

Flexible veut dire en particulier que la zone du même nom est pliable autour d'au moins un axe ayant une direction perpendiculaire à la direction d'alignement de l'arrangement opératoire des électrodes et du regroupement des bornes
25 électriques.

Préférentiellement, le support est une feuille ou plaque souple en matériau isolant.

Grâce à la présente invention, la zone purement électrique du capteur se trouve déportée par rapport à sa zone active, c'est-à-dire celle comportant et
30 rassemblant les électrodes, sur lesquelles les ligands sont respectivement fixés, et ce en permettant n'importe quelle position relative entre les deux zones extrêmes comportant respectivement les bornes électriques et les électrodes, grâce à la flexibilité du support, au moins dans sa zone intermédiaire entre les deux dites zones extrêmes.

Ainsi, les électrodes peuvent être trempées dans une solution liquide, alors
35 que les bornes électriques sont à l'air libre et/ou au sec. Ceci permet de réaliser, dans d'excellentes conditions techniques ou pratiques :

élémentaires; conférer les documents FR 2703359, EP 0 691 978, et WO9422889 ; WO 0151689, US 6 090 933.

Aujourd'hui, les biocapteurs du type biopuces sont des outils, simples ou
5 complexes, bien adaptés à toutes sortes d'analyse de biologie moléculaire ; conférer "DNA chips : a new tool for genetic analysis and diagnostics". M. Cuzin. Transfusion clinique et Biologique 2001 ; 8:291-6 ; et "How to make a DNA chip", Michael C. Pirrung, Angew. Chem. Int. Ed 2002.41, 1276-1289.

De manière générale, un biocapteur tel que décrit précédemment est
10 disposé au fond d'un puits, par exemple d'une plaque de micro-titration, au sein duquel l'échantillon liquide comprenant l'espèce cible est introduit, séjourne, puis est évacué.

La présente invention a pour objet un capteur, en particulier un biocapteur, et par exemple une biopuce, particulièrement simples à fabriquer ou réaliser, et permettant les mises en œuvre les plus variées, par exemple dans les puits d'une micro-
15 plaque.

Selon la présente invention, d'une part la multiplicité d'électrodes est disposée dans une zone extrême à l'opposé d'une autre zone extrême dans laquelle les bornes électriques sont regroupées ensemble, et d'autre part le support comporte au moins une zone flexible, située entre les deux zones extrêmes.

20 Préférentiellement, la totalité du support est flexible et réalisée par exemple en matériau isolant souple sous faible épaisseur.

Flexible veut dire en particulier que la zone du même nom est pliable autour d'au moins un axe ayant une direction perpendiculaire à la direction d'alignement de l'arrangement opératoire des électrodes et du regroupement des bornes
25 électriques.

Préférentiellement, le support est une feuille ou plaque souple en matériau isolant.

Grâce à la présente invention, la zone purement électrique du capteur se trouve déportée par rapport à sa zone active, c'est-à-dire celle comportant et
30 rassemblant les électrodes, sur lesquelles les ligands sont respectivement fixés, et ce en permettant n'importe quelle position relative entre les deux zones extrêmes comportant respectivement les bornes électriques et les électrodes, grâce à la flexibilité du support, au moins dans sa zone intermédiaire entre les deux dites zones extrêmes.

Ainsi, les électrodes peuvent être trempées dans une solution liquide, alors
35 que les bornes électriques sont à l'air libre et/ou au sec. Ceci permet de réaliser, dans d'excellentes conditions techniques ou pratiques :

- l'adressage des ligands dans une zone extrême, avec une mesure par détection électrique dans une autre zone extrême,

- un contrôle qualité au cours des étapes d'adressage des sondes ou ligands sur leurs électrodes respectives, et d'hybridation (appariement des ligands fixes sur le support avec la ou les espèces cibles d'intérêt), par exemple par mesure de l'impédance en chaque site de liaison ; la mesure de l'impédance est différente en chaque site, selon qu'il est non adressé, adressé, non hybridé, ou hybridé,

- s'agissant d'une micro-plaque de titration, le déport entre les zones extrêmes permet de disposer un capteur selon l'invention, dans chaque puits, avec sa zone active, c'est-à-dire celle comportant les électrodes au fond dudit puits et sa zone électrique, c'est-à-dire celle comportant les bornes électriques, en périphérique, par exemple sur le bord de la micro-plaque.

Et un capteur selon la présente invention permet de fabriquer et mettre en œuvre des biopuces selon une approche totalement différente de l'approche traditionnelle, en :

- fabricant les biopuces sur un seul et même support flexible, puis en procédant à la découpe,

- reportant chaque biopuce découpée dans l'endroit de son utilisation, par exemple au fond d'un puits d'une plaque de micro-titration, en s'adaptant à la conformation de l'endroit d'utilisation.

La présente invention est maintenant décrite par référence au dessin annexé dans lequel :

- la figure 1 représente à échelle agrandie un biocapteur du type biopuce, selon la présente invention,

- la figure 2 représente une vue en coupe selon la ligne II/II de la figure 1, à caractère schématique, de la biopuce représentée à la figure 1,

- les figures 3 et 4 représentent respectivement deux autres modes de réalisation de la présente invention,

- la figure 5 représente un détail, (à l'extrémité gauche selon la représentation de la figure 2), d'exécution d'un autre mode de réalisation de la présente invention.

Conformément aux figures 1 et 2, un capteur (1), en particulier un biocapteur selon la présente invention comprend :

- un support (2) isolant électrique ou électronique, par exemple obtenu en polyimide, comprenant une face utile (2a) correspondant à la face supérieure et une autre face (2b), pouvant être utilisé, correspondant à la face intérieure,

- une multiplicité d'électrodes (31, 32), chaque électrode (31) étant reliée à une électrode (32), ou comportant au moins deux têtes (31), (32) adjacentes reliées entre elles, électriquement ou électroniquement conductrices, disposées sur la face utile (2a) du support, selon tout arrangement opératoire prédéterminé, découvertes, au sens où lesdites électrodes peuvent être mises au contact ensemble avec un même milieu extérieur, par exemple un échantillon liquide d'intérêt,
- une multiplicité de bornes électriques (4) correspondant respectivement aux électrodes (31) disposées sur une face utile (2a, ou 2b) du support (2), découvertes, au sens où ces bornes peuvent être connectées à l'extérieur électriquement ou électroniquement de manière indépendante les unes par rapport aux autres,
- une multiplicité de pistes (5) électriquement ou électroniquement conductrices, réalisées par exemple dans un alliage de nickel et d'or ou d'un alliage de cuivre et d'or, cheminant chacune sur l'une (2a) et/ou l'autre (2b) faces du support (2), reliant la multiplicité d'électrodes (31 et 32), respectivement à la multiplicité des bornes (4),
- une couche (6) d'un matériau électriquement ou électroniquement isolant, par exemple un vernis, couvrant l'une (2a) et/ou l'autre (2b) faces du support (2), d'une part en recouvrant au moins en partie, sinon en totalité les pistes (5), et d'autre part en découvrant et les électrodes (31, 32) et les bornes (5).

Selon l'invention, en combinaison, d'une part la multiplicité d'électrodes (4) est disposée dans une zone (1a) à l'opposé d'une zone (1b) dans laquelle la multiplicité des bornes (5) électriques sont regroupées ensemble, et d'autre part le support (2), du fait de la flexibilité ou souplesse du matériau isolant mis en œuvre, est agencé pour être flexible au moins dans une zone intermédiaire (1c), au moins autour d'au moins un axe ayant une direction perpendiculaire à la direction d'alignement de l'arrangement opératoire des électrodes (31 et 32) dans la zone (1a), et du regroupement des bornes électriques (5) dans la zone (1b).

Chaque ensemble composé d'une électrode (31) et d'une électrode (32) peut être vu comme une seule et même électrode comportant deux têtes adjacentes, reliées entre elles.

Conformément au mode d'exécution de la figure (3), une autre piste (7) électriquement ou électroniquement conductrice chemine sur l'autre face (2b) du support (2), à partir d'une autre borne électrique (8) disposée sur la face (2b) du support ainsi rendu utile ; cette borne (8) est découverte pour être reliée à un potentiel de

référence, et une extrémité (8a) de la piste (7) est recouverte d'une couche (9) du matériau électriquement isolant, par exemple un vernis.

Bien entendu, la disposition décrite précédemment pourrait être mise en oeuvre sur la face utile (2a).

5 Conformément au mode d'exécution de la figure 4, deux autre pistes (7) et (10), électriquement ou électroniquement conductrices, cheminent entre, respectivement deux autre bornes électriques (8 et 11), pour être reliée à un potentiel de référence, disposées respectivement sur l'une (2a) et l'autre (2b) faces du support (2), et respectivement deux extrémités (8a) et (10a), recouvertes chacune du matériau
10 électriquement ou électroniquement isolant, par exemple un vernis.

La piste (7) et ou la piste (10) ainsi décrites, peuvent être affectées au blindage électrique de l'arrangement des électrodes (31 et 32), afin de se prémunir contre les rayonnements électro-magnétiques perturbant les signaux d'adressage ou de mesure.

15 Comme montré à la figure 5 au moins une borne électrique (4) est disposée sur l'autre face (2b) du support (2), face également utile au sens de la présente invention, et la piste (5) qui lui correspond traverse l'épaisseur du support (2). Cette disposition permet une prise de contact électrique du côté opposé au plot (31), de telle sorte que ce dernier éventuellement en contact avec un liquide soit électriquement
20 accessible dans une zone en dehors dudit liquide.

S'agissant d'un biocapteur, du type biopuce, une pluralité de ligands sont fixés chacun en nombre multiple, sur les électrodes (31 et/ou 32), respectivement différentes.

Exemple

25 Un capteur selon l'invention, ou "flexo-puce", est mis en oeuvre, avant ou après adressage, ou avant ou après hybridation, comme représenté schématiquement à la figure 6, avec les références numériques suivantes :

- 1) capteur
- 20, 21) contenant dans lequel est disposé un liquide (21)
- 30 22) électrode de référence
- 23) potentiostat
- 24) organe de commande et contrôle
- 25) boîtier d'alimentation
- 26) masse
- 35 27) contre-électrode.

Une flexo-puce selon l'invention est adressée comme suit :

- on plonge une flexo-puce (1) dans une solution (21) de copolymérisation contenant 20 mM de pyrrole et 1 μ M de pyrrole-ODN1 (1 unité pyrrole-ODN pour 20 000 unités pyrrole). On applique un potentiel de +1V/ECS pendant un temps t nécessaire pour faire passer une quantité de charge égale à 2,7 mC.cm⁻² par plot,
- 5 - on sort la flexo-puce (1) et la rince à l'eau désionisée si l'on désire adresser les autres plots par un autre ODN, (ODN = oligonucléotide),
- ensuite on replonge la flexo-puce (1) dans une solution (21) contenant le même ratio molaire pyrrole/pyrrole-ODN mais avec un ODN différent (ODN2),
- on recommence ces manipulations n fois le nombre de plots (31-32)
- 10 jusqu'à ce qu'ils soient tous adressés.

Les séquences nucléotidiques des sondes déposées sont à titre d'exemple :

ODN 1	ACT-908P	TTTTTTTTTCTCCACCACTGCTGAAAGAGAAATTGTCCGTGTCATCAAGGAAAACTAT
ODN 2	GRE1-88P	TTTTTTTTTAGACAACAGCGTCATGAAAAACATCAACAGAGGGAATTCAGGAATCAAGG
ODN 3	KRR1-456P	TTTTTTTTTTTAAAGGCTTTGGAACCTCTAACTAAATGTTACATTCTAGTACAAGGTA
ODN 4	RPS31-246P	TTTTTTTTTTGAAGGTCTACACCACCCCAAAGAAGATCAAGCACAAGCACAAGAAGGTCA
ODN 5	SEO1-1262P	TTTTTTTTTTGTATGGTTTATTGATGCTTACTGGTATTATTGCAGATAAAATTACACTCT
ODN 6	YDR411C-894P	TTTTTTTTTTGTCTCAAACCAGTGGCACAGATTCAGGCAGAGCTTCTGGAAGTCAATTAA
ODN 7	YEF3-2800P	TTTTTTTTTTGCTTTGTCTAAGGCTTTGAAGGAATTGAAGGTGGTGTATTATCATTAC
ODN 8	YNL208W-542P	TTTTTTTTTTCCTCAGGAATTCGGGGGCCAAGGTCGTCAAGGATTCAATGGCGGTTACAG

REVENDICATIONS

1. Capteur (1), en particulier biocapteur, comprenant :

- un support (2) isolant électrique ou électronique, comprenant au moins une face utile (20),

- une multiplicité d'électrodes (31, 32) électriquement ou électroniquement conductrices, disposées sur la face utile (2a) du support selon tout arrangement opératoire prédéterminé, découvertes, au sens où lesdites électrodes peuvent être mises au contact ensemble avec un même milieu extérieur, par exemple liquide,

- une multiplicité de bornes électriques (4) correspondant respectivement auxdites électrodes (4), disposées sur une face utile (2a, 2b) du support, découvertes, au sens où lesdites bornes peuvent être connectées à l'extérieur, électriquement ou électroniquement, de manière indépendante les unes par rapport aux autres,

- une multiplicité de pistes (5) électriquement ou électroniquement conductrices, cheminant chacune sur l'une (2a) et/ou l'autre face (2b) du support, reliant la multiplicité d'électrodes (31, 32) respectivement à la multiplicité de bornes (4),

- une couche (6) d'un matériau électriquement ou électroniquement isolant, revêtissant l'une (2a) et/ou l'autre (2b) faces du support (2), d'une part en recouvrant au moins en partie lesdites pistes (5), et d'autre part en découvrant et les électrodes (31, 32) et les bornes (5), caractérisé en ce que, en combinaison, d'une part la multiplicité d'électrodes (4) est disposée dans une zone extrême (1a) à l'opposé d'une autre zone extrême dans laquelle des bornes (5) électriques sont regroupées ensemble, et d'autre part le support (2) comporte au moins une zone flexible (1c), située entre les deux zones extrêmes.

2. Capteur selon la revendication 1, caractérisé en ce que la totalité du support est flexible.

3. Capteur selon la revendication 1, caractérisé en ce que la zone flexible est pliable autour d'au moins un axe ayant une direction perpendiculaire à la direction d'alignement de l'arrangement opératoire des électrodes (31, 32) et du regroupement des bornes électriques (5).

4. Capteur selon la revendication 1, caractérisé en ce que le support (2) est une feuille souple en matériau isolant.

5. Capteur selon la revendication 1, caractérisé en ce que chaque électrode comporte au moins deux têtes (31, 32) adjacentes reliées entre elles.

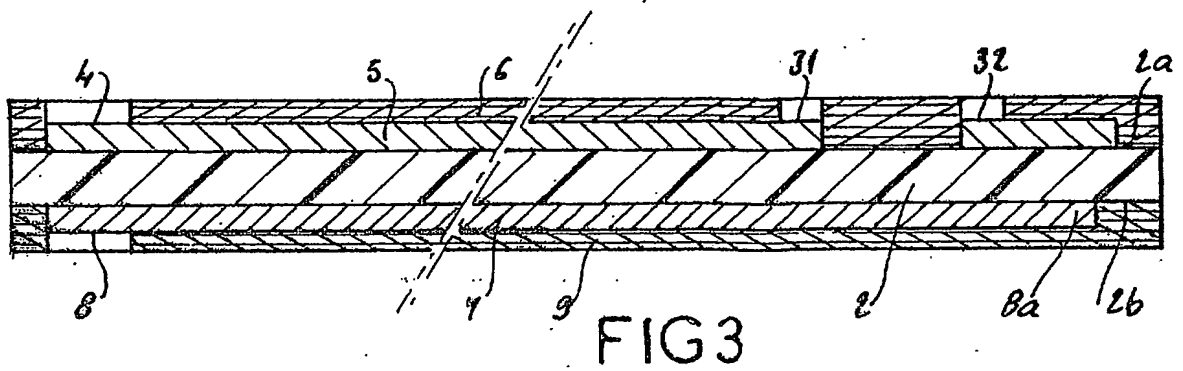
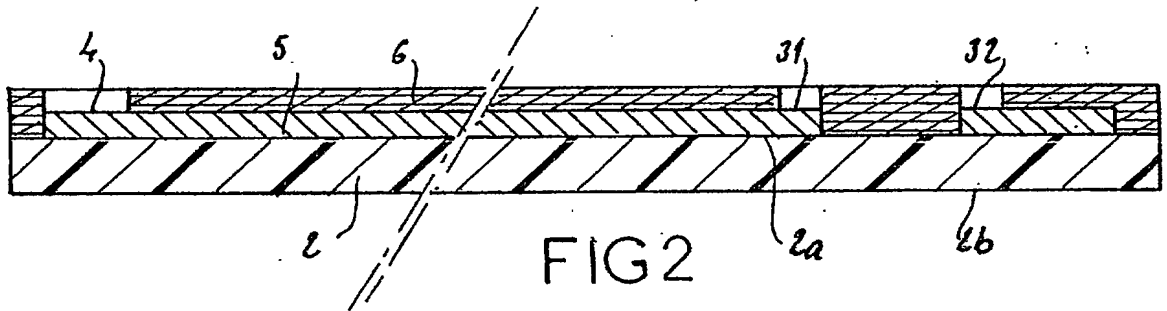
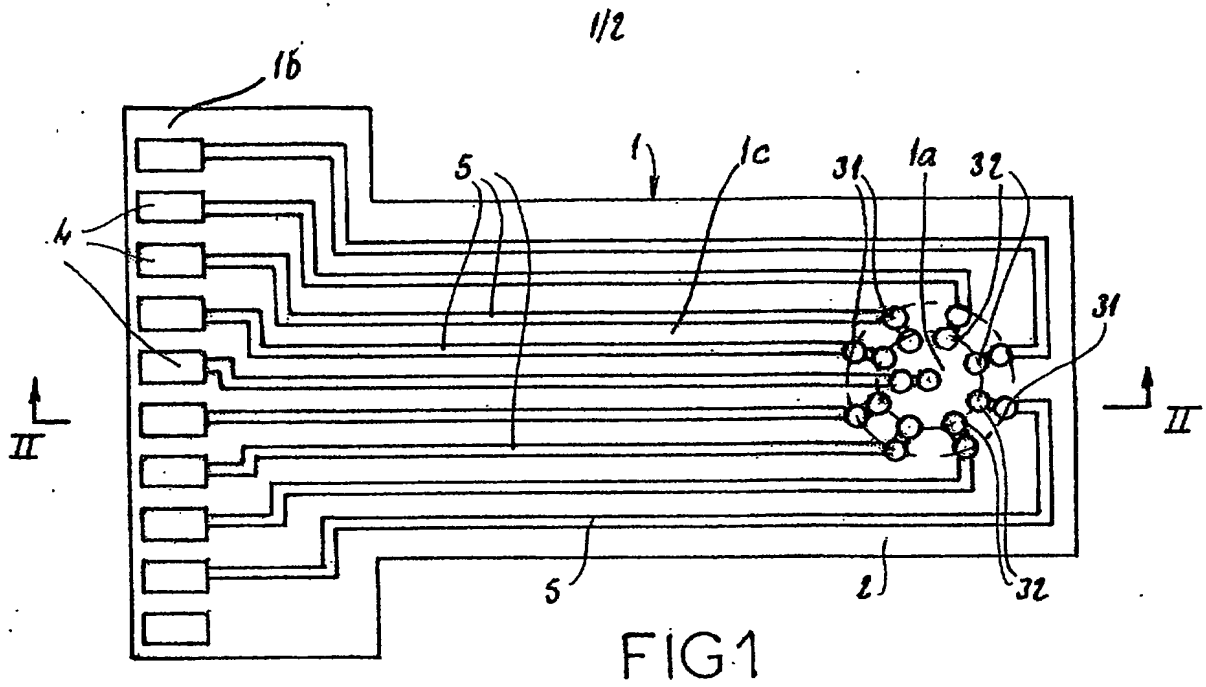
6. Capteur selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'au moins une autre piste (7) électriquement ou électroniquement conductrice chemine sur l'une (2a) et/ou l'autre (2b) faces du support, entre une autre borne (8) électrique disposée sur une face utile (2b) du support, découverte pour être reliée à un potentiel de référence, et une extrémité (8a) recouverte d'une couche (9) du matériau électriquement ou électroniquement isolant.

7. Capteur selon la revendication 6, caractérisé en ce que ladite autre piste (7) conductrice est affectée au blindage de l'arrangement des électrodes (31, 32).

8. Capteur selon la revendication 6, caractérisé en ce que deux autres pistes (7, 10) électriquement ou électroniquement conductrices cheminent, entre deux autres bornes électriques (8, 11), pour être reliée à un potentiel de référence, disposées respectivement sur l'une (2a) et l'autre (2b) face du support, et respectivement deux extrémités (8a, 10a) recouvertes chacune d'une couche (9, 12) du matériau électriquement ou électroniquement isolant.

9. Capteur selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'au moins une borne électrique (4) est disposée sur l'autre face (2b) du support, également utile, et la piste (5) qui lui correspond traverse l'épaisseur du support (2).

10. Biocapteur selon la revendication 1, du type biopuce, caractérisé en ce qu'une pluralité de ligands sont fixés chacun en nombre multiple, sur des électrodes (31,32) respectivement différentes.



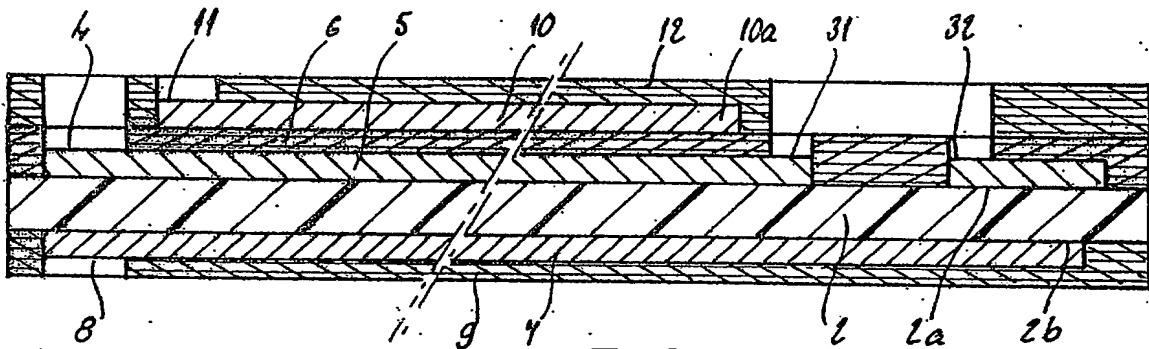


FIG 4

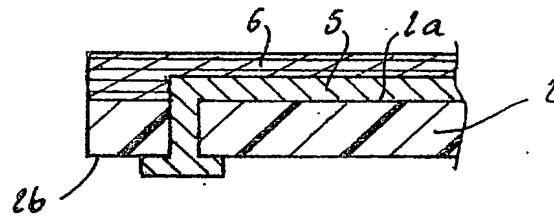


FIG 5

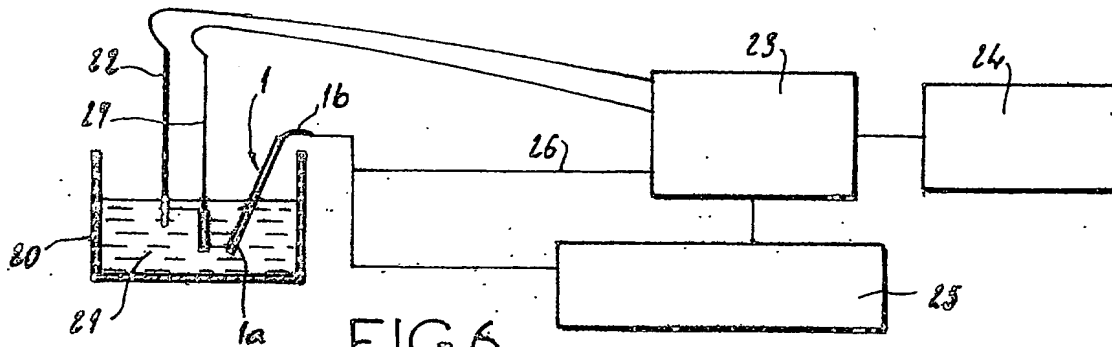


FIG 6